

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 150

Travail du Laboratoire de Chimie organique et Toxicologie
et du Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine et de Pharmacie

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
de
Pouvoir antiseptique de certains constituants
des
ESSENCES VÉGÉTALES
soumis ou non à l'action de l'Ozone

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(Section de Pharmacie)

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

LE MERCREDI 7 MAI

par

Robert GUILLOT

Né à Vizille, le 10 Février 1905



LA TOUR-DU-PIN

IMPRIMERIE G. SOUILLER & Cie

1930



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
POUVOIR ANTISEPTIQUE
DE
Certains Constituants des Essences Végétales
soumis ou non à l'action de l'Ozone

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 156

Travail du Laboratoire de Chimie organique et Toxicologie
et du Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine et de Pharmacie

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
de
Pouvoir antiseptique de certains constituants
des
ESSENCES VÉGÉTALES
soumis ou non à l'action de l'Ozone

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(Section de Pharmacie)

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

LE MERCREDI 7 MAI

par

Robert GUILLOT

Ne à Vixille, le 10 Février 1905



LA TOUR-DU-PIN

IMPRIMERIE G. SOUILLER & Cie

1930

PERSONNEL DE LA FACULTE



Doyen honoraire. M. J. HUGOUNENQ.
 Doyen. M. J. LÉPINE.
 Assesseurs M. ROLLET.

Professeurs Honoraires

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUVE, ROQUE, LANNOIS.

Professeurs

Cliniques médicales	}	MM. PIC
Cliniques chirurgicales		PAVIOT
Clinique obstétricales et Accouchements.		TIXIER
Clinique ophtalmologique		BERARD
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.		VORON
Clinique neurologique et psychiatrique.		ROLLET
Clinique des maladies des enfants		NICOLAS
Clinique des maladies des femmes.		LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie		MOURIQUAND
Clinique des maladies des voies urinaires.		VILLARD
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie		COLLET
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie		ROCHET
Chimie biologique et médicale.		NOVE-JOSSERAND
Chimie organique et Toxicologie.		CLUZET
Matière médicale et Botanique.		HUGOUNENQ
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.		MOREL
Anatomie.		BRETIN
Histologie.		GUIART
Physiologie		LATARJET
Pathologie interne		POLICARD
Pathologie et Thérapeutiques générales.		DOYON
Anatomie pathologique		FROMENT
Chirurgie opératoire.		CADE
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie.		FAVRE
Médecine légale		PATEL
Hygiène		ARLOING (F.)
Thérapeutique.		Etienne MARTIN
Pharmacie		COURMONT (P.)
Hydrologie thérapeutique et climatologie.		SAVY
		LEULIER
		PIERY

Professeurs Titulaires sans chaire

Chargé d'un cours de Pathologie externe.	MM. VALLAS
— — — Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN
— — — Chimie minérale.	BARRAL
— — — Urologie.	GAYET

Chargés de Cours complémentaires

Anatomie topographique	MM. THEVENOT (Léon)
Puériculture et hygiène de la première enfance.	RHENTER
Chirurgie expérimentale	TAVERNIER
Applications du radium	NOGIER
Stomatologie	TELLIER

Agrégés

MM	MM	MM.	MM.
GARIN	MAZEL	DUMAS	ROCHET (Ph)
TRILLAT	SANTY	DUFOURT	WERTHEIMER
SARVONAT	DUNET	DEVIC	GATE
FLORENCE (G.)	CHALIER (André)	GABRIELLE	BERNHEIM
ROCHAIX	CHALIER (Joseph)	MANCEAU	DECHAUME
RHENTER	NOEL	MARTIN (Joseph)	POLLOSSON

M. BAYLE, Secrétaire

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. MOREL, Président — MM. BRETIN, LEULIER
 M. ROCHAIX, Agrégé

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE.

*En témoignage de ma profonde affection
et de ma reconnaissance infinie.*

A MON FRÈRE, A MA SŒUR

A MA GRAND' MÈRE

A MES PARENTS ET A MES AMIS

À MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. MOREL.

Professeur de chimie organique et de toxicologie,

Chevalier de la Légion d'Honneur.

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR PH. BRETIN.

Professeur de Matière Médicale,

Chevalier de la Légion d'Honneur.

MONSIEUR LE PROFESSEUR LEULIER.

Professeur de Pharmacie

Chevalier de la Légion d'Honneur.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ ROCHAIX,

Chevalier de la Légion d'Honneur.

A MONSIEUR DOEUVRE.

Docteur ès-sciences

Chef des travaux de la Faculté des sciences de Lyon.

A MES MAÎTRES.

AVANT-PROPOS

Nous sommes heureux de profiter de la soutenance de cette thèse pour assurer tous nos Maîtres de notre reconnaissance.

Nous tenons à remercier tout d'abord M. le Professeur MOREL qui nous a donné l'idée de cette thèse et aidé de son travail. Nous accueillant toujours avec une grande bienveillance, il fut pour nous un guide précieux. Qu'il soit assuré de notre profonde reconnaissance.

M. le Professeur ROCHAIX a bien voulu nous ouvrir son laboratoire et s'associer avec M. le Professeur MOREL pour la direction des expériences. Il nous a aidé de son travail et de ses conseils ; nous tenons à l'en remercier et à l'assurer ici de toute notre gratitude.

Nous remercions M. le Professeur BRETIN et M. le Professeur LEULIER d'avoir accepté de juger notre thèse et nous leur gardons une profonde reconnaissance pour la bienveillance qu'ils nous ont témoignée.

Avec la plus grande amabilité, M. DŒUVRE, chef des travaux à la Faculté des sciences de Lyon, nous a fourni les produits à expérimenter. Il nous a beaucoup aidé de son travail : nous l'en remercions bien vivement.

INTRODUCTION

Dans ces dernières années, la Médecine a repris l'utilisation des propriétés antiseptiques des huiles essentielles, négligées pendant longtemps. Persuadés de l'importance de la question, MM. les Professeurs MOREL et ROCHAIX, en 1919, ont commencé une étude complète et scientifique des propriétés antiseptiques et infertilisantes des essences et de leurs constituants. Leur but est de donner, « non seulement un classement utile dans la pratique, mais encore une indication sur le mode d'action de ces agents ». (1)

Nous avons, sous leur direction, étudié le pouvoir infertilisant de quelques alcools terpénogènes et de quelques terpènes. Nos expériences ont porté sur le citonnellol de l'essence de citronnelle de Java, le rhodinol de Barbier, le linalol de l'essence de bois de rose femelle de Cayenne, enfin sur le pinène de l'essence de myrte. Nous avons voulu, en outre, établir une comparaison entre le pouvoir infertilisant d'une essence de térébenthine française récemment préparée et celui d'une même essence de térébenthine vieillie.

En 1910, RUATA, (2) étudiant la désinfection au moyen des composés dits ozonifiants, constate que les

(1) MOREL et ROCHAIX : Comptes rendus Société Biologie 1929, TCI, page 1152.

(2) *Bulletino delle scienze mediche*, Bologne, Avril 1910.

(3) *Pharmaceutical Journal*, 1910.

huiles essentielles ozonifiées ne se prêtent pas à un dégagement d'ozone. Pourtant, en 1913, HOLMES, relatant l'expérience de HALL, sur l'eucalyptol, écrivait : « l'Ozone contenu dans les essences est l'agent le plus important » au point de vue antiseptique.

Avec les conseils de MM. MOREL et ROCHAIX, nous avons cherché à élucider la question en ce qui concerne les alcools terpénogènes et les pinènes étudiés. Dans cette intention, ces corps ont été systématiquement soumis par les soins de M. DŒUVRE, à l'action d'un courant d'oxygène ozonidé.

Notre travail comprendra deux parties. Dans la première partie, se trouveront groupés les renseignements touchant la question étudiée.

Un premier chapitre exposera les recherches antérieures sur le pouvoir antiseptique des essences, et un second chapitre donnera la constitution, les propriétés chimiques des constituants d'essences expérimentés ainsi que les transformations que leur a fait subir l'ozonification. Le tout sera accompagné, dans un troisième chapitre, d'une brève étude botanique sur les essences de citronnelle, de linaloë de Cayenne et de térébenthine française.

Une deuxième partie comprendra d'abord les conditions d'expérimentation, puis les résultats obtenus soit sur les produits-témoins : acétate d'éthyle ou phénol, soit sur les constituants d'essences examinés et leurs dérivés d'ozonisation.

PREMIÈRE PARTIE

PRÉLIMINAIRES

CHAPITRE I

Expériences antérieures sur le pouvoir antiseptique des Essences

Dans les documents historiques les plus anciens, nous voyons accorder aux aromates des propriétés cicatrisantes et antiputrides qui les faisaient employer pour le pansement des plaies et l'embaumement des morts. Il est prouvé maintenant que les momies égyptiennes trouvées si merveilleusement conservées après plus de 4000 ans avaient subi l'action antiseptique de certaines huiles essentielles.

La tradition des merveilleuses vertus des plantes se poursuivit jusqu'à nos jours. Aux XV^e et XVI^e siècles, un très grand nombre d'essences et produits balsamiques étaient employés en médecine.

En 1619, DE L'ORME, médecin de Louis XIII, conseillait de porter pendant les épidémies une sorte de cagoule en maroquin à laquelle était fixé un long nez rempli de parfums pour chasser la malignité de l'air. Ce masque protecteur fut d'ailleurs adopté par le corps médical de Marseille pendant l'épidémie de peste de 1720.

La panacée de nos pères, la célèbre thériaque, préparée dans chaque faculté avec une pompe royale, comprenait dans sa formule très complexe quarante-deux plantes aromatiques. Le baume du Commandeur de Pernes et le vin aromatique de la Pharmacopée actuelle, sont les derniers vestiges d'une thérapeutique qui est loin d'être inefficace.

Il est curieux de constater que, pendant longtemps, les savants ont négligé l'étude systématique de ces médicaments sur lesquels la médecine de leur temps mettait son espoir.

Pourtant (1) en 1750, PRINGLE établissait une classification des médicaments antiputrides en mélangeant des liquides médicamenteux avec certaines substances putrescibles et en notant ceux qui retardent et empêchent la putréfaction. Mais les premières expériences dignes d'intérêt sont celles d'ANGUS SMITH (Edimbourg 1869).

Dans une série de tubes contenant des substances gazeuses ou volatiles, l'auteur plaçait des morceaux de viande suspendus par des fils aux bouchons paraffinés ; ou bien, dans des flacons soigneusement bouchés, il versait des quantités connues de substance à étudier sur des morceaux de viande égaux en poids.

Cette méthode bien imparfaite a donné, surtout en ce qui concerne les essences, des résultats contredits par les expériences ultérieures.

(1) Une partie de l'historique a été empruntée au *Traité d'Antiseptie appliqué à la Thérapeutique et à l'Hygiène* par LE GENDRE BARETTE LEPAGE.

Ce furent ensuite les recherches de PETIT, O' NIAL, puis de GOSSELIN et BERGERON. A partir de 1875, commence à Dorpat toute une série de travaux pour la détermination du pouvoir antiseptique d'un assez grand nombre de corps. Tour à tour : BUCHOLTZ, KUHN, HABERKORN, JALAN DE LA CROIX étudièrent la question avec méthode.

Après avoir montré que les bactéries résistent inégalement suivant la composition chimique du milieu où on les cultive, BUCHOLTZ établit pour ses expériences la formule d'un liquide encore appelé de son nom et qui diffère fort peu du milieu de Pasteur. Il chercha alors, non seulement la dilution d'antiseptiques empêchant le développement des bactéries, mais encore à quelle concentration ces mêmes produits détruisaient le pouvoir de reproduction des microbes.

KUHN, et HABERKORN firent les mêmes expériences sur des milieux de culture différents.

En 1881, NICOLAÏ JALAN DE LA CROIX, sous la direction de DRAGGENDORF, reprit la question en ensemençant le liquide de BUCHOLTZ avec les bactéries du tabac. A la suite de longues recherches, il énonça les conclusions suivantes :

1° Les bactéries résistent mieux à l'action des antiseptiques dans leur milieu d'origine que dans un milieu de culture différent.

2° Les spores, plus résistantes que les bactéries, sont plus facilement stérilisées dans le liquide d'origine des bactéries qui les ont produites que dans le liquide de transplantation où ces bactéries ont été détruites par les antiseptiques.

(1). Annales Institut Pasteur, 1887.

Faisant après DUCLAUX la critique des travaux de son maître JALAN DE LA CROIX et de ses prédécesseurs, KOSSIAKOFF (1) observait, en 1887, que l'étude des propriétés antiseptiques devait se faire suivant certaines règles très rigoureuses négligées jusqu'alors, en partie tout au moins. D'après lui, avant de commencer toute recherche de ce genre, il faut noter : le microbe sur lequel on opère, la nature du milieu de culture, la température ambiante, la quantité de semence et sa nature; c'est-à-dire si elle est faite d'adultes ou de spores. Enfin la durée d'expérimentation doit être considérée comme très importante car des germes que l'on a pu croire détruits un moment donné, peuvent n'avoir été que retardés dans leur évolution.

R. KOCK, en 1881, avait déjà suivi en grande partie ces règles indispensables, en effet, pour une étude scientifique. Ses expériences portèrent sur la bactériidie charbonneuse sporulée ou non. Un fil infecté était plongé dans des dilutions croissantes d'antiseptiques pendant le temps nécessaire à chacune d'elles pour amener une stérilisation complète. D'après des résultats concordant avec ceux de JALAN DE LA CROIX sur d'autres bactéries, le professeur allemand range l'acide phénique parmi les meilleurs antiseptiques pour une certaine catégorie de microorganismes. En effet, si pour amener la destruction des bacilles sporulés il faut avoir recours à une solution voisine de 1 0/0 en 7 jours et près de 10 0/0 en 24 heures, il suffit d'une solution de 0,5 0/0 pour détruire sûrement en 24 heures les bactéries non sporulées. Au moyen d'une autre méthode, il souligna encore la différence d'action des antiseptiques suivant le milieu de culture des microbes. Kock indique en ou-

(1) Annales Institut Pasteur 1887.

tre la grande activité contre la bactériodie charbonneuse de l'essence de moutarde. Il considère l'essence de térébenthine comme un infertilisant de premier ordre pour le charbon car une dilution de $\frac{1}{75.000}$ suffit pour commencer à entraver le développement du microbe dans une solution de viande peptonisée.

Sans se préoccuper du pouvoir antiseptique des corps sur tel ou tel microbe, MIGUEL, dans sa thèse sur les organismes vivants de l'atmosphère (1883), recherche la plus petite quantité de substance nécessaire pour empêcher la putréfaction d'un litre de bouillon de bœuf neutralisé, exposé aux germes naturels de l'air.

Plus tard, établissant un tableau des antiseptiques, il reconnaît une grande activité au thymol et à l'essence amandes amères, mais considère les huiles essentielles en général comme peu intéressantes au point de vue antiseptique.

Dans ces différents travaux, il n'était étudié que quelques essences, toujours les mêmes ; c'étaient les essences de moutarde, d'eucalyptus, de girofle, de thym, de carvi, et encore le thymol, l'eucalyptol et le carvol. Il faut attendre les expériences de CHAMBERLAND (1) en 1887, pour avoir des recherches importantes sur le cas particulier du pouvoir antiseptique des huiles essentielles, soit à l'état de vapeur, soit en solution dans l'alcool.

Le milieu de culture employé était l'eau de levures dans laquelle la solution d'essence était maintenue en émulsion au moyen d'un peu de saponine. L'ensemencement se faisait avec du sang charbonneux.

(1) CHAMBERLAND. Annales de l'Institut Pasteur, 1887.

Son important travail amène CHAMBERLAND à considérer les essences comme d'excellents antiseptiques, devant même rendre de grands services dans la pratique, aussi bien pour la désinfection en surface des objets que pour le traitement antiseptique des plaies. Il ajoute pourtant : « Les essences doivent être employées à l'état frais. Lorsqu'elles ont été au contact de l'air pendant un certain temps, elles s'oxydent et perdent une partie de leurs propriétés antiseptiques ».

L'auteur, en conclusion, estime que les essences d'origan, de cannelles, d'angélique, de vespéto et de géranium d'Algérie ont des propriétés antiseptiques exceptionnelles. Pour lui, l'essence de térébenthine est bactéricide à des dilutions entre 1/13.200 et 1/24.200.

CADÉAC et MEUNIER (2) reprennent ces expériences en 1889, avec une technique différente car ils se sont donné pour but de déterminer le temps nécessaire aux essences pour tuer un microbe donné. L'essence de linaloë se trouve ainsi étudiée pour la première fois. Dans les conditions de l'expérience, elle ne se montra même pas très bactéricide ; il lui fallut en effet 8 à 10 jours pour tuer le bacille d'Eberth alors que l'essence de térébenthine ne demanda que 45 heures.

L'attention des médecins de France se trouve dès lors plus particulièrement attirée sur ces antiseptiques récemment étudiés.

Dans son ouvrage sur la thérapeutique des maladies infectieuses, le Professeur BOUCHARD insiste sur le

(2) CADÉAC et MEUNIER, Annales de l'Institut Pasteur, 1889.

pouvoir antiseptique des essences. Reprenant les expériences de CHAMBERLAND, il cherche même à les compléter pour la pratique médicale en déterminant le coefficient de toxicité puis le coefficient antiseptique d'un certain nombre d'essences. C'est lui qui le premier établit le pouvoir infertilisant, c'est-à-dire la plus petite quantité de ces essences capable d'empêcher le développement microbien. BOUCHARD écrit (1) enfin : il est quelques essences « qui sont aussi antiseptiques que les sels mercuriels. Six se classent hors pair par leur pouvoir antiseptique : ce sont les essences de cannelle de Chine, de cannelle de Ceylan, d'origan, d'angélique, de vespéto et de géranium d'Algérie. . . . L'équivalent antiseptique de ce mélange d'essences » — suivant des proportions établies par l'auteur : — « est de 0,114 (pour le bacille pyocyanique). Au-dessus de cette dose, aucun développement ne se fait. Quant à l'équivalent toxique, il est de 0,15. . . . La valeur thérapeutique de ce mélange d'essences serait donc bien supérieure à celles du naphthol, etc... »

L'idée était bien lancée et la thérapeutique a, de plus en plus, recours aux huiles essentielles d'une manière réfléchie. De tous temps, les inhalations d'essences avaient été employées dans le traitement des maladies des voies respiratoires mais elles entrent de plus en plus en faveur, si bien qu'un peu partout, on installe des salles d'inhalations. D'autre part, ce n'est pas seulement par la voie gastrique que l'on administre les balsamiques et les essences, mais encore par injections intratrachéales et hypodermiques.

(1) BOUCHARD. *Thérapeutique des maladies infectieuses*.

C'est ainsi que le Gomenol de PREVET est accueilli favorablement comme antiseptique après les travaux du Docteur FORNÉ (1), complétés par ceux du Professeur GUEGEN (2) en 1902 puis en 1908.

Dès cette époque, les publications sur l'emploi en thérapeutique des huiles essentielles sont nombreuses ; elles correspondent à une recrudescence des études *in vitro* sur le pouvoir bactéricide des essences.

En 1910, le premier essai de classification systématique des essences au point de vue antiseptique est tenté par MARTINDALE (3). L'auteur établit pour chacune d'elles le coefficient phénol suivant la technique de LANCET, légèrement modifiée, et dresse le tableau des chiffres ainsi obtenus. Les calculs étaient faits suivant la formule :

$$\text{Coefficient phénol} = \frac{\text{Dose infertilisante du phénol o/o}}{\text{Dose infertilisante de l'essence o/o}}$$

Les essences ou leurs constituants étaient mis en suspension dans l'eau et les résultats relevés 2 minutes, puis 30 minutes après l'ensemencement. Un coefficient moyen était alors calculé.

Pour l'Eberth :

$$\text{Citronnellol} \left\{ \begin{array}{l} 2 \text{ minutes} = 8 \\ 30 \quad \quad = 8,235 \\ \quad \quad \quad 8,117 \end{array} \right.$$

La conclusion de l'auteur est la suivante : « Il est intéressant de constater que le géraniol est supérieur comme pouvoir antiseptique aux essences de cannelle et aussi que ce produit est une fois et demie plus

(1) Forné, Annales Institut Pasteur.

(2) Guegen, Pouv. Antiseptique du Gomenol 1902. Société biologie 1908.

(3) Martindale, Pharmaceutical Journal 1910

actif seul qu'uni au Citronnellol. Géraniol et citronnellol paraissent, l'un et l'autre, supérieurs à leurs huiles essentielles.

En 1913, HOLMES (1), étudiant les essences d'Eucalyptus, rapporte les expériences de BECKER et SMITH et aussi les travaux faits à Sydney par M. HALL sous la direction de M. WALSH.

Il écrit : « L'auteur a trouvé, à son grand étonnement, que l'Eucalyptol, ne contenant qu'une trace de pinène et d'ozone (extrait de l'Eucalyptus Smithii) possédait de très faibles qualités antiseptiques, plus faibles même que celles des autres constituants. En poussant plus loin, on s'aperçut que les pouvoirs bactéricides variaient suivant les différents spécimens d'eucalyptol et que cette variation dépendait de la quantité d'ozone contenu.

.
« Les expériences de M. HALL ont montré que la présence d'ozone est due aux terpènes.
Le phellandrène et l'aromatendrène s'ozonifient plus rapidement que le dextropinène et ce dernier, plus rapidement que le levopinène.
Les résultats de M. HALL peuvent être résumés ainsi :

1° L'eucalyptol, sauf quand il est chargé d'ozone, est le moins bactéricide des constituants des huiles.

2° L'ozone contenu dans les essences est l'agent le plus important.

3° Les pinènes sont la source d'ozone et les constituants s'ozonifiant le plus facilement sont le phellandrène et l'aromadendrène.

4° Le meilleur eucalyptol est celui que l'on extrait des huiles contenant des pinènes.

(1) Holmès, Pharmaceutical Journal 1913.

5° Les huiles rectifiées vendues dans le commerce devraient donc être essayées pour la présence d'ozone.

6° Il serait donc utile d'introduire dans la pharmacopée un essai pour la recherche de l'Ozone dans l'Eucalyptol. »

En 1918, M. CLAVEL (1) classe quelques huiles essentielles suivant leur valeur antiseptique en déterminant, pour chacune d'elles, la dose qu'il faut employer pour rendre impossible toute végétation microbienne dans le bouillon de viande ordinaire neutralisé puis copieusement ensemencé. Pour se placer dans un cas général, l'ensemencement de 10 cc. de bouillon a été fait avec l'eau d'une fosse septique desservant un réseau d'égout ; l'analyse y avait décelé une grande quantité de microbes pathogènes ou saprophytes, les seconds plus résistants que les premiers aux antiseptiques en général.

La dose infertilisante de l'essence de térébenthine a été fixée suivant cette méthode à 8.6 pour 1000 gr. de bouillon.

L'intérêt pratique de la question a incité MM. les Professeurs MOREL et ROCHAIX à reprendre méthodiquement ces travaux en les complétant. Dans leurs expériences, ces auteurs ont tenu le plus grand compte des propriétés physiques et chimiques des produits étudiés. Suivant des techniques éprouvées, ils ont déjà fixé le pouvoir antiseptique et infertilisant d'un très grand nombre d'essences à l'état moléculaire et à l'état colloïdal micellaire. Leur intention est de « mettre (2) comparativement en œuvre des essences frai-

(1) CLAVEL. Comptes rendus Académie des Sciences, 1918.

(2) MOREL et ROCHAIX. Bulletin des sciences pharmacologiques, 1925, Tome xxxii, page 257.

chement obtenues et leurs produits de fractionnement afin d'essayer de fixer avec plus de précision la nature chimique des constituants les plus microbicides et, si possible, le mode d'action de ceux-ci. »

Le Docteur BONNAURE (3) commença ce travail sous leur direction par l'étude des essences de lavande, de romarin et de constituants d'essences : Geraniol, Eucalyptol, Terpeneol et Salvol. Un grand nombre de publications dans le Bulletin des sciences pharmacologiques et de comptes rendus à la Société de Biologie marquèrent ensuite les étapes du travail de MM. MOREL et ROCHAIX. Guidé par eux, M. SEVELINGE, en 1929, étudia le pouvoir infertilisant des essences de menthe et de leurs principes constituants.

A la suite d'expériences faites par la méthode de KOCK, dite aux fils, sur certaines essences agissant soit à l'état de vapeurs, soit à l'état liquide, MM. MOREL et ROCHAIX étaient arrivés aux conclusions suivantes sur des microbes représentant toute une échelle de vitalité :

« 1^o L'activité antiseptique des essences, du moins lorsqu'elles ont été conservées un certain temps après leur distillation, agissant soit à l'état de vapeurs, soit par contact, présente des différences notables de l'une à l'autre, suivant les microbes, même vis à vis du méningocoque, particulièrement sensible aux antiseptiques.

« 2^o En comparant les résultats obtenus dans les deux cas, nous constatons que leur activité est sensiblement différente suivant l'état sous lequel on les fait agir. L'ordre d'activité décroissante est le suivant :

(3) BONNAURE, Thèse Doctorat en médecine, Lyon, 1919.

Essences agissant à l'état de Vapeur		Essences agissant à l'état liquide	
Citron	Lavande	Thym	Lavande
Thym	Goménol	Citron	Romarin
Orange	Menthe	Genièvre	Bergamotte
Bergamotte	Romarin	Menthe	Eucalyptus
Genièvre	Santal	Goménol	Santal
Girofle	Eucalyptus	Orange	Anis
Citronnelle	Badiane	Citronnelle	Badiane
		Girofle	

« 3^o Si l'on veut obtenir une stérilisation complète et non pas seulement temporaire, il semble nécessaire, même vis-à-vis des microbes sensibles, surtout si l'on emploie les essences à l'état de vapeur, de prolonger leur action, pour le bacille diphtérique, par exemple. Nos expériences *in vitro* montrent combien il peut être difficile et long d'annihiler *in situ* dans l'organisme certains microbes pathogènes, enrobés dans des gangues de mucus ou d'autres colloïdes. . . Elles montrent, en outre, combien il est important de faire un choix judicieux de l'essence à utiliser suivant le microbe que l'on se propose d'atteindre. » (1)

Plus tard, étudiant par dilutions successives le pouvoir infertisant de certaines essences sur l'Eberth, le staphylocoque cultivés sur gelose, et sur le Loeffler cultivé sur serum de cheval, ces auteurs faisaient les constatations suivantes : (2)

« 1^o . . . Le pouvoir infertisant et l'action antiseptique des essences ne sont pas toujours superposables. . . »

« 2^o En ce qui concerne le pouvoir infertisant lui-même, il faut noter la différence considérable qui existe entre l'essence de thym à thymol et l'essence de thym

(1) MOREL et ROCHAIX. B. S. P. Mai 1925, Tome xxxii, p. 257 et suivantes.

(2) *ibid* B. S. P. 1928 T XXXV p. 631.

à carvacrol, comme aussi celle qui se manifeste entre l'essence d'eucalyptus citriodora et l'essence d'eucalyptus globulus.

« On voit tout l'intérêt qu'il y aura à poursuivre, comme nous venons de le faire, des recherches sur les *constituants définis* de ces essences d'origines botaniques différentes.

« 3° Les résultats consignés mettent en évidence la diminution du pouvoir infertilisant des essences quand elles passent de l'état moléculaire à l'état colloïdal micellaire, etc... »

Enfin, tout dernièrement, MM. MOREL et ROCHAIX (1) donnaient à l'étude qu'ils avaient faite jusqu'à présent, la conclusion suivante au point de vue du mode d'action des essences ou de leurs constituants comme antiseptiques :

« De ce dernier point de vue, on peut considérer que ceux que nous avons étudiés, pas plus que les substances organiques artificielles, douées de pouvoir infertilisant ou microbicide, ne peuvent être rangées dans une même classe chimique et qu'il est impossible de rattacher ce pouvoir à un groupement fonctionnel. L'exemple des alcools terpénogènes aliphatiques d'une part, et celui du menthol, alcool à chaîne saturée, d'autre part, sont là pour montrer que ni la fonction phénol, ni le noyau aromatique, ni le carbonyle aldéhydique, ni les doubles liaisons éthyléniques ne sont nécessaires et ne jouent un rôle essentiel. Au contraire, le fait qu'avec les antiseptiques volatils on peut pour certaines doses, ne produire qu'un simple retard dans le développement et la constitution, que nous venons

(1) Morel et Rochaix, C. R. de la Soc. de biol. T. CI p. 1152.

de faire avec S. ADAM, que le menthol a à 37° une solubilité considérable et supérieure à 100 o/o dans l'huile olive, attire l'attention sur le rôle que peuvent jouer certaines propriétés physiques particulières, communes à des corps de constitutions chimiques très différentes. Tel est le cas de la solubilité dans les lipides qui a pour conséquence des modifications dans la viscosité et la tension superficielle de ceux-ci et qui a une si grande influence lorsqu'il s'agit de la manifestation du pouvoir hypnotique, sur les phénomènes de membranes et les échanges qu'ils conditionnent.»

KARWACKI et BIERNACKI (1) d'abord, puis FABRY (2) ont publié des résultats instructifs des recherches sur l'action inhibitrice vis-à-vis du bacille de Kock, de quelques huiles essentielles déjà employées dans le traitement de la tuberculose. Ce dernier auteur ayant injecté un milligramme de culture de bacilles tuberculeux bovins à un cobaye maintenu dans une atmosphère saturée de vapeurs d'eucalyptol, avait constaté au bout de 29 jours que cet animal avait résisté à l'infection.

Avec M. COURMONT, MM. MOREL et ROCHAIX (3) ont pensé qu'il serait intéressant d'étendre leurs expériences systématiques sur les essences et leurs constituants, à l'étude du bacille tuberculeux humain. Ils ont employé une culture de bacilles entraînés depuis plusieurs années à pousser en voile sur bouillon glycéro-peptoné pour la fabrication de la tuberculine

(1) KARWACKI et BIERNACKI. Annales Institut Pasteur, T. 391, 1925, p. 476.

(2) FABRY. Annales Institut Pasteur, T. 490, 1926, p. 521.

(3) COURMONT, MOREL, BAX, Comptes rendus Société Biologie, T. XCIX 1928, n° 35, p. 1742.

De plus en plus, la thérapeutique semble vouloir demander à ces recherches *in vitro* des renseignements précieux pour le traitement des maladies contagieuses et des plaies infectées. Entre beaucoup de publications intéressantes, nous citerons les nombreuses observations cliniques rapportées par le Dr Robert JACQUES (1) sur le traitement de la tuberculose pulmonaire par certaines huiles essentielles employées en injections hypodermiques.

Tout dernièrement, M. Jean CLERC (2) faisait paraître une étude développée sur le gomenol, son action *in vitro* et *in vivo* sur le bacille tuberculeux ainsi que son emploi en oleothorax dans le traitement de la tuberculose pulmonaire.

La Médecine semble donc attendre beaucoup du pouvoir bactéricide des essences. Grâce aux nombreux travaux de laboratoires sur la question, elle pourra choisir avec certitude dans ce groupe des auxiliaires précieux pour la lutte contre les microbes.

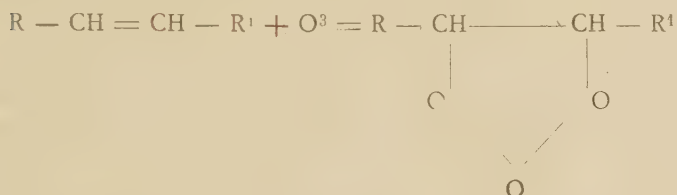
(1) *Marseille Médical* 1927.

(2) Clerc, *Revue Tuberculose* Janv. 1930 T XI p. 39.

CHAPITRE II

Caractères des produits employés Constitutions et Propriétés Chimiques

L'ozone peut, aussi bien que le chlore et le brome, saturer les liaisons éthyléniques sur lesquelles il se fixe à raison d'une molécule O^3 par double liaison (Harries 1904).



Les ozonides ainsi formés sont très instables et, en général, très explosifs. Sous l'action de l'eau, il y a coupure de la molécule dans plusieurs sens possibles. A chacun des deux atomes de carbone intéressés peut rester fixé un atome d'oxygène, de telle sorte qu'il y ait production d'aldéhyde ($-CHO$) ou de cétone ($-CO-$), tandis que le dernier atome d'oxygène s'élimine à l'état d'eau oxygénée. « Cet ensemble de corps représente un système en évolution par suite de l'action hydrolysante de l'eau et de l'action oxydante de l'eau oxygénée. » (Dœuvre). Il se forme donc à la longue, des peroxydes d'aldéhyde ou de cétone et des acides.

HARRIES a même démontré que, sous l'action de l'ozone concentré, il se formait un oxozone dont la formule contenait O^4 ou même O^8 .

Dans sa thèse pour le Doctorat ès-sciences, M. Dœuvre (1) avait eu recours, pour l'étude de la formule du citronnellole et du rhodinol, à une méthode d'ozonification quantitative dont il est l'auteur. Avec la plus grande amabilité, il a bien voulu nous donner la plupart des renseignements dont nous faisons état dans ce paragraphe. C'est lui qui nous a fourni les solutions de citronnellole de rhodinol, de linalol, de pinène, de myrte employées dans ce travail et un échantillon de chacun de ces corps a été ozonidé par lui, suivant sa méthode.

La transformation du corps en ozonides, la quantité d'ozone dissous dans l'acétate d'éthyle employé comme solvant et aussi la possibilité de formation d'oxozone à propriétés oxydantes très élevées, peuvent varier avec les conditions de la préparation et modifier dès lors les résultats bactéricides obtenus. Avant de fixer la composition chimique des corps expérimentés, nous devons par conséquent emprunter à la thèse de M. Dœuvre la description de l'appareil employé et indiquer la méthode pour l'ozonification.

« L'appareil producteur d'ozone est constitué par trois tubes de Guntz, c'est-à-dire des tubes de Berthelot doublés. Ils sont suspendus dans des bocalx de verre remplis d'eau acidulée à 5 o/o de $\text{SO}^4 \text{H}^2$ constituant l'armature externe. Les tubes extérieurs remplis d'eau acidulée forment l'armature interne.

« Les conducteurs électriques utilisés sont des fils de nichrome N.R.C. qui, quoique subissant une légère attaque par $\text{SO}^4 \text{H}^2$ peuvent servir plusieurs mois. Au point de vue physique proprement dit, c'est-à-dire pour le passage des gaz et au point de vue électrique, les trois tubes sont disposés en parallèles.

(1) Jean Dœuvre. Thèse pour le Doctorat es-sciences : « Recherches sur le Citronnellole et le Rhodinol » 1928 Lyon.

« Les différentes communications sont faites par des tubes de verre plongeant dans des cuvettes contenant du mercure.

« Les armatures internes reliées entre elles sont mises en communication avec un des pôles du secondaire d'un transformateur ayant son autre pôle à la terre. Les armatures externes sont en relation avec la terre ; de cette façon, seul le conducteur électrique de l'armature interne est à un haut voltage, ce qui diminue les dangers d'accident.

« La production d'ozone en quantité appréciable, par action de l'effluve électrique sur l'oxygène gazeux, est sous la dépendance d'un certain nombre de facteurs et nous avons cru devoir indiquer ci-après les conditions précises avec lesquelles nous avons eu des rendements acceptables.

Le courant utilisé provenant du secteur électrique est un courant continu de 110 volts qui est transformé, au moyen d'une commutatrice, en courant alternatif agissant sur un transformateur. Ce dernier a un des pôles du secondaire relié à la terre et possède, à l'autre pôle, un voltage de 8000 volts environ. La commutatrice, munie d'un rhéostat, produit un courant de 80 à 90 volts, sous une intensité d'un ampère environ. La fréquence est égale à 50.

L'oxygène employé est desséché par deux barbottages dans $\text{SO}^4 \text{H}^2$ concentré, ce qui permet en outre de suivre le débit gazeux. Il est préférable d'utiliser de l'oxygène provenant de la séparation de l'air liquide et par suite dépourvu d'hydrogène ; sinon, ce dernier, en passant dans les ozoniseurs, donne de l'eau et entraîne ainsi un abaissement du rendement en ozone.

Débit gazeux et rendement

Pour éviter des entrainements mécaniques, le débit de l'oxygène est environ de 2 litres 1/2 à l'heure.

Le rendement est, dans ces conditions, de 7 grammes d'O³ dans 100 grammes du mélange oxygène-ozone, correspondant à une production horaire de 0,22 d'ozone. »

L'appareil d'ozonisation est constitué par un barboteur en verre rodé (genre flacon de Durand) plongé dans de la glace.

Pour nos expériences, M. DŒUVRE faisait passer, pendant 1 heure 1/2, le courant d'oxygène ozonidé dans les solutions à 5 ou 20 o/o dans l'éther acétique.

Tout d'abord ont été employés des alcools terpénogènes à une seule double liaison : le citronnellol et le rhodinol.

Rhodinol et Citronnellol

Les essences de géranium renferment les deux inverses optiques ; celle de roses possède du citronnellol gauche et les essences de *Barosma pulchella* et surtout de citronnelle fournissent du citronnellol droit.

Le rhodinol a été décelé par ECKART dans l'essence de roses. Ce résultat fut confirmé par BARBIER et BOUVEAULT ; peu après, BARBIER et MONNET découvrirent ce même alcool dans l'essence de géranium.

L'existence et l'identité chimique de ces deux corps terpénogènes firent l'objet de nombreux travaux alimentant une très vive controverse entre deux écoles.

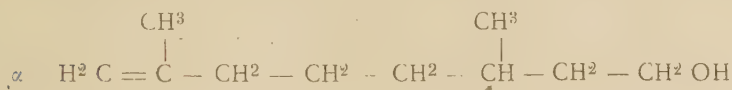
L'école allemande, avec TIEMANN et SCHMITT, prétendait que le rhodinol extrait de l'essence de roses et de géranium et le citronnellol obtenu par réduction du citronnellal étaient deux inverses optiques d'un mê-

me corps. Par contre, l'école française dont les chefs étaient BARBIER et BOUEVAULT, soutenait qu'il s'agissait bien là de deux corps distincts, isomères par la position de la double liaison.

Le grand écueil rencontré par les chercheurs était la difficulté d'isoler les alcools étudiés à l'état de pureté absolu. Chacun d'eux imagina une méthode de purification différente, donnant parfois des produits différents. Aussi TIÉMANN et SCHMITT employaient pour avoir du rhodinol pur, l'anhydride phtalique et BARBIER et BOUEVAULT avaient recours au chlorure de benzoyle.

Les travaux d'HARRIÈS et HIMMELMANN commencèrent à éclairer quelque peu la question. En 1928, M. DŒUVRE reprit et compléta ces recherches au moyen de sa méthode d'ozonification quantitative.

Il semble donc établi (1) maintenant que le citronnellol et le rhodinol sont des mélanges en proportions variables de deux isomères chimiques.



Dans le citronnellol, la forme *b* prédomine nettement : 80 o/o suivant l'analyse de M. DŒUVRE.

Quant au rhodinol obtenu suivant la technique de

(1) GRIGNARD. DŒUVRE. Bulletin Société Chimique, 1929, T. 45, page 821.

DŒUVRE. idem 1929, p. 1098.

DŒUVRE. Thèse pour le Doctorat ès-sciences, Lyon, 1928.

« Recherches sur le Citroⁿnellol et le Rhodinol », 1928.

BARBIER et BOUVEAULT, en traitant l'essence de géranium de Bourbon par le chlorure de benzoyle, puis en saponifiant par la potasse alcoolique, il s'agit d'un produit artificiel qui comprend :

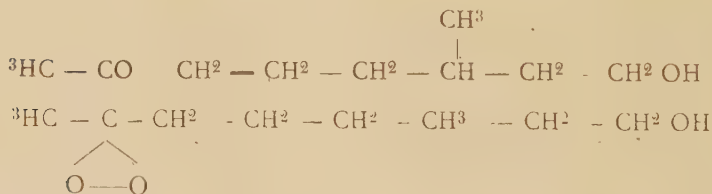
45 o/o de forme *a*
55 o/o de forme *b*

« Le chlorure de benzoyle, par l'intermédiaire de l'acide chlorhydrique formé au moment de l'éthérification, a déterminé un déplacement de la double liaison entraînant au détriment de la forme *b*, une augmentation de proportion de forme *a*. Celle-ci existe elle-même dans l'essence primitive en raison de 25 o/o environ. »

D'après M. DŒUVRE, le rhodinol de TIÉMANN et SCHMITT par l'anhydride phtalique est différent du produit de BARBIER et BOUVEAULT.

Enfin cet auteur a reconnu que, dans le citronnellol et le rhodinol, les isomères de même structure sont les invers optiques l'un de l'autre.

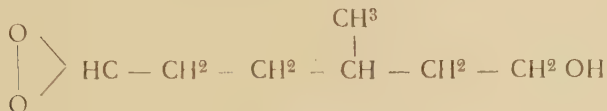
L'ozone agissant sur la forme *a* donnera, après hydrolyse par H^2O : de l'eau oxygénée, de l'aldéhyde formique, de l'acide formique, du gaz carbonique et encore :



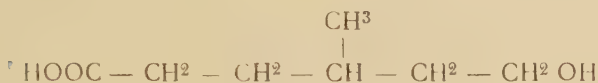
Avec la Forme *b*, on aura : de l'eau oxygénée, de l'acétone, un aldéhyde :



un peroxyde d'aldéhyde :



un acide :



Nous avons employé le citronnellol de l'essence de citronnelle de Java. Les constantes physiques de ce corps sont, en général, les suivantes : (1)

$$\begin{array}{ll} \text{D } 15^\circ \text{ de } 0,8604 \text{ à } 0,8629; & \text{A D de } + 2^\circ 7' \text{ à } 2^\circ \text{ à } 31' \\ & \text{ND } 22^\circ \text{ de } 1,45651 \text{ à } 1,4579 \end{array}$$

C'est un liquide incolore d'odeur rosée agréable, plus fine que celle du géraniol.

Le rhodinol avait été préparé suivant la méthode de BARBIER. Il répondait aux constantes suivantes:

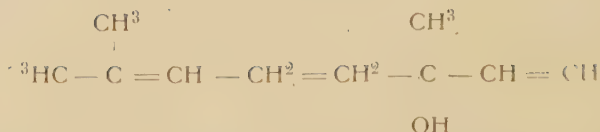
$$\begin{array}{l} \text{P.E.} = 110 \quad \text{D } \frac{19}{4} = 0,857 \quad \text{N } \frac{19}{\text{D}} = 1,4562 \\ \quad \quad \quad \alpha \frac{17}{\text{D}} = - 1^\circ 18' (1 \text{ dim}) \end{array}$$

Nous avons ensuite expérimenté un alcool terpénogène à deux doubles liaisons : le linalol.

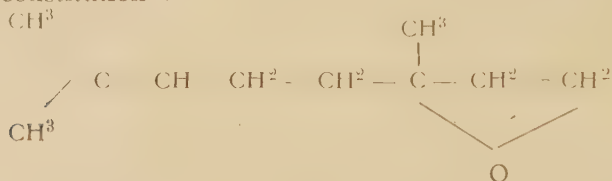
Le Linalol

On admettait qu'il était un alcool tertiaire de formule

(1) SCHIMMEL & Cie dans GILDMEISTER et HOFFMANN : « Les huiles essentielles », traduction Laloue, I, 385.



Mais il est sur qu'il diffère par ses propriétés chimiques des alcools de son groupe. C'est ainsi qu'avec l'acide cyanique, il ne donne pas d'allopphanate cristallisé comme les alcools tertiaires étudiés jusqu'ici. Pour expliquer ce fait, BEHAL (1) émet l'hypothèse que le linalol ne serait pas un alcool mais un oxyde de constitution :



A l'appui de cette hypothèse, il signale que le linalol, chauffé avec de l'eau à 210°, se transforme en géraniol.

Pourtant, par sa méthode d'ozonification quantitative, M. DŒUVRE a obtenu à partir de ce corps :

Aldéhyde formique :	45 o/o
Acide formique :	92 o/o
Acétone :	97 o/o

Comme ce dernier auteur, nous admettons la première formule.

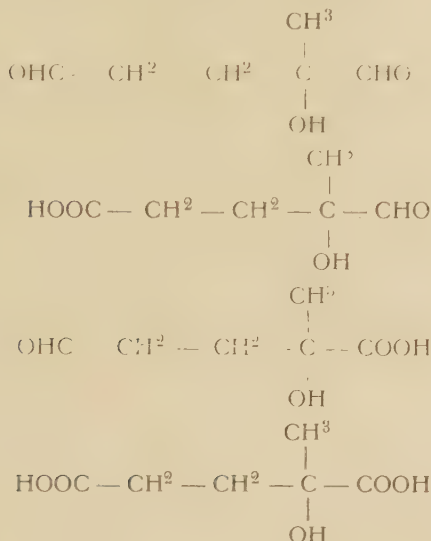
Pour isoler cet alcool, il faut faire la distillation fractionnée des essences de linalol préalablement saponifiées. On obtient un produit souillé de terpènes. La purification se fait par action de l'anhydride phtalique sur la combinaison du linalol : il se forme le sel de sodium de l'éther phtalique, acide très soluble dans l'eau et saponifiable par la potasse alcoolique. Le linalol est séparé de sa solution alcaline en le dissolvant par l'éther (3).

(1) BEHAL. Bulletin Société Chimie. T. 25, p. 452.

(2) DŒUVRE. Bulletin Société chimique 20/12/29.

(3) TIEMAN. Berl. Berichte, 1898.

Par action de l'ozone, de l'eau, puis de l'eau oxygénée, on peut avoir à partir du linalol :



Le linalol essayé au point de vue de l'action infertilisante, provenait de l'essence de bois de rose de Cayenne et possédait les constantes suivantes :

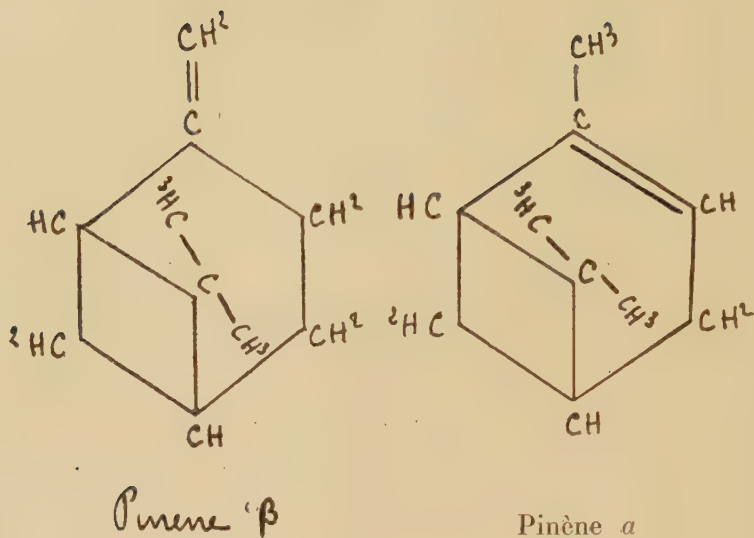
$$\text{Eb. } 15 = 91^{\circ} \quad d_{\frac{13}{4}} = 0,870 \quad n_{\text{D}}^{\frac{13}{4}} = 1,4649 \quad \alpha_{\text{D}}^{\frac{13}{4}} = -16^{\circ}26'(\text{dm})$$

Le Pinène

Les essences de térébenthines sont constituées par des terpènes dont la nature et les proportions varient avec l'origine de l'essence. L'essence de la pharmacopée française renferme le térébenthène ou pinène *a* accompagné seulement de quatre dixièmes de son poids de pinène *b* ou nopinène (DUPONT, DUVERNOIS).

Le *a* pinène présente une chaîne hexagonale porteuse de l'unique double liaison de la formule, combinée avec une chaîne fermée tétragonale.

Dans le *b* pinène, la double liaison se trouve au contraire dans la chaîne latérale.



Ces formules montrent bien que la molécule est nettement asymétrique.

Le pinène *α* dextrogyre se rencontre dans l'essence de térébenthine américaine et grecque, dans l'essence de myrte et aussi dans un grand nombre de plantes appartenant à des familles différentes.

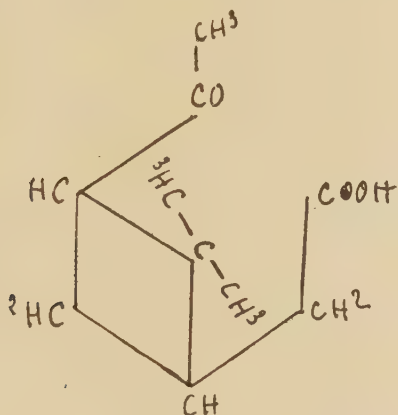
Le pinène lévogyre (térébenthène de Berthelot) est celui de l'essence de térébenthine du Codex français.

Il est toutefois possible que, dans la plupart des cas, les essences renferment un mélange de *d-α* pinène et de *l-α* pinène, le sens de déviation dépendant des proportions dans lesquelles ces deux modifications se trouvent en présence.

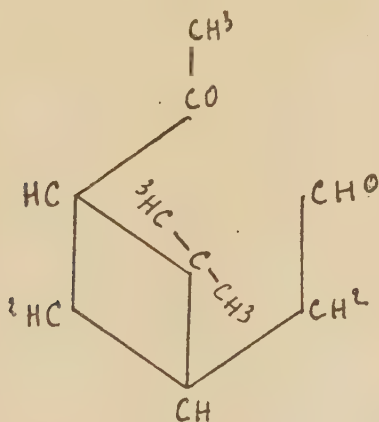
Il est intéressant de remarquer pour nos expériences que le pinène, en présence de l'oxygène et de l'eau, se convertit en hydrate de pinol. Au contact des acides

minéraux dilués, il se forme du terpinéol puis l'hydrate de terpine.

Par l'oxygène ozonidé sur le pinène, on obtient des ozonides qui, décomposés par l'eau, donnent de l'acide pinonique. (1)



HARRIES et SPLAWA-NEYMAN ont obtenu de l'aldéhyde pinonique.

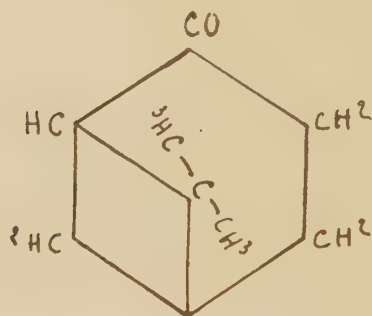


-
- (1) HARRIES NERESHEIMER. Ber dants. Chem. ges. 1908.
 (2) HARRIÈS, SPLAWA-NEYMAN idem 1909.

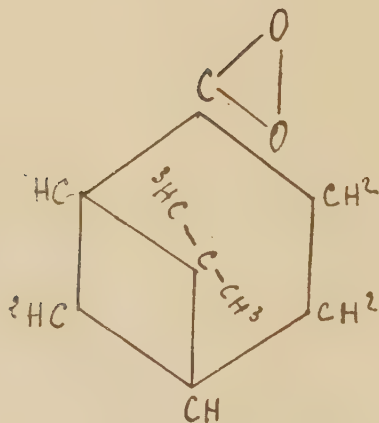
La petite quantité de *b* pinène contenu dans l'essence de térébenthine a pu donner, au cours de nos expériences, par suite de l'action d'O³ de l'eau, puis de exposé au début de ce chapitre :

de l'aldéhyde formique, de l'acide formique, du gaz carbonique

une cétone



et son peroxyde



Nous avons employé le *d* pinène de l'essence de myrte qui, rectifié, bout à 76-77 sous 42 millimètres. Enfin nous avons fait des expériences comparatives sur l'essence de térébenthine, avant et après l'ozonification par la méthode de M. DŒUVRE, et sur une essence de térébenthine vieillie, présentant une forte réaction au Gayac.

Suivant le Codex, l'essence de térébenthine : « constitue un liquide incolore, mobile, présentant une odeur forte et particulière, une saveur âcre et brûlante. Sa densité est de 0,864 à +15° ; son indice de réfraction, 1,468 à +25°. Elle bout vers +156° et se volatilise sans résidu quand elle a été récemment rectifiée. Sa vapeur, très inflammable à l'air, brûle avec une flamme éclairante très fuligineuse. L'essence de térébenthine officinale dévie à gauche le plan de polarisation de la lumière polarisée : son pouvoir rotatoire moléculaire spécifique est de $\alpha^d = -40^{\circ} 32$. Insoluble dans l'eau et peu soluble dans l'alcool faible, l'essence de térébenthine se dissout dans 7 parties d'alcool à 90°. Elle dissout les corps gras, la cire et de nombreuses substances organiques. L'essence de térébenthine se combine lentement à l'eau, surtout en présence de l'air, en donnant des cristaux de terpine hydratée. Exposée à l'air, elle en fixe l'oxygène ; elle devient ainsi jaune et visqueuse. » On constate alors une augmentation du poids spécifique, de l'indice de réfraction et du point d'ébullition, en même temps que diminue la déviation polarimétrique et la solubilité dans l'alcool à 90°. L'essence de térébenthine, d'abord neutre, est devenue acide.

On avait d'abord admis, avec SCHÖNBEIN, que l'essence de térébenthine, en vieillissant, se chargeait d'ozo-

né (1) en ce sens que l'oxygène de l'air, en se fixant sur l'essence, était transformé par cette dernière en ozone. Mais plus tard, KUNGZETT BARDSKI puis PASOGLI démontrèrent que l'essence de térébenthine ancienne renfermait de l'eau oxygénée et non de l'ozone. D'ailleurs, l'eau oxygénée et l'ozone en présence se détruiraient.

L'explication du phénomène fut donnée par ENGLER. Cet auteur prouva que, par action de l'air atmosphérique ou de l'oxygène pur sur l'essence de térébenthine, il se forme un produit d'oxydation de nature peroxydique, susceptible d'abandonner la moitié de son oxygène, l'autre moitié restant fixée sur l'essence. Il a montré, après Berthelot, qu'une molécule d'essence de térébenthine absorbe 4 atomes d'oxygène dont 2 sont ensuite éliminés à nouveau. C'est ainsi que l'essence de térébenthine vieillie peut transporter son oxygène sur des corps non directement oxydables sous l'influence de l'oxygène de l'air.

On peut donc admettre la présence, dans les anciennes essences de térébenthine exposées à l'air, d'eau oxygénée, d'un peroxyde et des acides formique, acétique et camphorique.

L'essence de térébenthine récente employée dans nos expériences nous avait été garantie comme répondant aux conditions du Codex par la Pharmacie Centrale de France.

L'essence de térébenthine ancienne avait été conservée pendant une dizaine d'années et présentait une très forte réaction au gayac.

(1) GILDMECTSER HOFFMANN : « Huiles essentielles », traduction Lalone T. II.

Etude botanique ⁽¹⁾

Dans ce paragraphe, nous étudierons brièvement l'origine botanique et les caractères des essences qui ont fourni, par distillation, les produits expérimentés.

Essence de Citronnelle.

L'essence de citronnelle est obtenue par distillation d'une graminée : *Cymbopogon Nardus* (Rendle) — *Andropogon Nardus* (Linnée). Cette plante ne se rencontre à l'état spontané qu'à Ceylan, mais on la cultive pour la production de l'essence du commerce, non seulement dans cette île, mais encore dans la presque-île de Malacca et à Java.

On distille deux variétés de citronnelle qui diffèrent par leur aspect extérieur et la qualité de l'essence fournie ; ce sont : la *Maha Pengiri* — *Cymbopogon Winteriannus* — qui donne l'essence de Java et le *Lanabattu* — *Cymbopogon Nardus* — dont on distille l'essence de Ceylan.

Le citronnellol employé dans nos expériences provenait de l'essence de Java.

Cette essence renferme les mêmes constituants que celle de Ceylan : Citronnellal, geraniol et citronnellol, mais les proportions diffèrent. Les produits qui ont la plus grande valeur commerciale se trouvent en proportions différentes dans l'essence de Java. Cette essence renferme le citronnellol sous sa forme dextrogyre ; le méthyleugenol et le citral s'y trouvent en moins grande quantité que dans le produit de Ceylan.

L'essence de citronnelle de Java est un liquide incolore d'une odeur très fine, sa densité varie entre

(1) Bretin, Matière Médicale.

Gildmeister Hoffman, huiles essentielles trad. Laloue T. II.

0,885 et 0,901 à 15°, en général sa déviation levogyre ne dépasse pas 3°.

Au pouvoir bactéricide du citronnellol obtenu par distillation de cette essence de citronnelle, nous avons voulu comparer celui d'un corps voisin : le rhodinol. M. DŒUVRE nous a fourni du rhodinol obtenu suivant la méthode Barbier et Bouveault, à partir de l'essence de géranium d'Algérie.

Essence de Géranium

Dans la famille des géraniacées, principalement trois espèces du genre *pélargonium* servent à l'extraction de l'essence, par distillation à la vapeur d'eau ; ce sont : le *pélargonium odoratissimum*, *pélargonium capitatum* et le *pélargonium roseum*. En général, seules les feuilles sont utilisées.

Les *pélargonium* sont originaires de l'Afrique du Sud mais sont cultivés maintenant dans tous les pays chauds et tempérés. Les principaux pays producteurs sont la Réunion, l'Algérie, le Midi de la France et l'Espagne, mais la qualité de l'essence et le rendement sont variables. Ainsi la plante qui vient dans les terrains secs fournit une essence plus fine mais en quantité moindre que celle qui croît dans les milieux irrigués artificiellement. En Algérie, la plante est vivace et donne trois coupes par an pendant 6 à 8 ans, alors que, dans le Midi de la France, une seule coupe est possible et la plante gèle tous les hivers.

Quelle que soit leur provenance, les essences de géranium présentent comme constituants principaux : le géraniol et le citronnellol, ce dernier alcool particulièrement abondant dans l'essence de la Réunion, et du linalol. On y a trouvé aussi un peu d'alcool phé-

nylthylique qui donnerait à l'essence son odeur un peu analogue à celle des roses, de l'*a* terpinéol, du menthol et peut-être de l'alcool amylique. Elles renfermeraient en outre des acides, un composé sulfuré, des terpènes et une paraffine surtout abondante dans l'essence d'Espagne. L'essence de géranium a une odeur très agréable. Celle de France est plus fine que celle d'Algérie qui, elle-même, est plus fine que celle de la Réunion.

L'essence d'Afrique répond aux constantes suivantes :

D_{15°} de 0,892 — 0,904 *a* D de — 6° 30' à — 12°
N_{D 20°} de 1,465 à 1,472.

Elle présente 70 o/o d'alcools constitués par quatre cinquièmes de géraniol et un cinquième de citronnellol.

Essence de bois de rose.

Sous le nom de bois de roses ou de Rhodes, on désigne très souvent l'essence retirée des racines du *Convolvulus scoparius* ou du *Convolvulus floridus*, convolvulacées frutescentes des îles Canaries. Toutefois, en France, on désigne sous ce nom l'essence de linaloë de Cayenne ou essence d'Azelia. De cette dernière essence a été retiré le linalol expérimenté.

Une assez grande confusion régna longtemps sur la provenance de cette essence de Cayenne et, encore aujourd'hui, la question ne paraît pas tranchée avec certitude.

Le bois de linaloë de la Guyane ou de Cayenne est désigné encore sous de multiples noms. On l'appelle : bois de roses mâle ou femelle, bois jaune, bois de citron de Cayenne, cèdre jaune copahu, enfin sarssafra ou likari kanali, d'après les appellations indi-

gènes. Il paraît certain que ces noms désignent des bois aromatiques de diverses familles.

Il semble qu'une grande quantité de l'essence commerciale soit fournie par l'*Ocotea caudata* (Mez) — *Sicarua guianensis* (Aubf) de la famille des Lauracées. Pourtant HOLMÈS, (1) dans un travail paru en 1910, affirme que l'*Ocotea caudata* donne le bois de rose mâle alors que le *Protium altissimum* fournit le bois de rose femelle. Les indigènes désigneraient par likari kanali, les jeunes pousses et par sarssafras, les vieux arbres.

La récolte se fait en toute saison et sans aucun soin. Aussi le rendement est-il très variable et le produit commercial de valeur inégale.

En général, une essence de bois de rose femelle de Cayenne renferme plus de 80 o/o de linalol gauche et elle diffère fort peu de l'essence de linalol du Mexique, produit pathologique retiré du bois ou quelquefois même des semences de différentes espèces du genre *Bursera*, en particulier du *Bursera Delpechiana* et du *Bursera Aloexylon*. Toutefois l'essence du Mexique renferme presque toujours un peu de linalol droit provenant des semences.

Dans l'essence de Cayenne, on a reconnu la présence de géraniol, de terpinéol et même de méthylheptol. On y a aussi décelé la présence de cinéol et de dipentène.

Les constantes physiques d'une bonne essence sont :
 $D_{15} = 0,870 - 0,880$ $\alpha_D = -10^{\circ} \alpha - 19^{\circ}$ $N_D^{20} = 1,461 - 1,463$

La teneur en alcool déterminée par acétylation de 7 heures en solution dans le xylène à 1/5, est de 90 à 70 pour cent.

(1) Perf. essential oil records.

L'essence est soluble dans 1,5 à 2 volumes et même plus d'alcool à 70°.

Essence de Myrte.

L'essence de myrte a fourni un *d.a* pinène dont nous avons mesuré le pouvoir bactéricide.

Elle est retirée des feuilles du *Myrtus communis*, myrtacée très répandue dans toute la région méditerranéenne.

C'est un liquide dont la couleur varie du jaune au vert ; son parfum est agréable et rafraîchissant. Les propriétés physiques varient avec la provenance du produit : la densité est de 0,880 à 0,925.

La fraction bouillant de 158° à 160° est formée du pinène *a* ; on y a décelé un hydrocarbure à identité chimique non encore déterminée. A la distillation, le cinéol et le myrtenol passent à des températures supérieures ainsi que le geraniol et le nérol.

Autrefois, sous le nom de myrtol, on employait beaucoup la fraction passant de 160° à 180°. On lui reconnaissait des propriétés antizymotiques et désodorisantes dues, sans doute, à la présence de cinéol.

Essence de térébenthine Codex.

« Parmi les essences de térébenthine commerciales qui proviennent de la distillation avec de l'eau des térébenthines fournies par divers con... res, l'essence de térébenthine retirée en France du *Pinus Pinaster* seul, par distillation avec de l'eau ou de la vapeur d'eau non surchauffée est l'essence de térébenthine officinale. » (1)

(1) : Pharmacopie française p 248.

Le *Pinus pinaster* (1) est un grand arbre à feuilles géminées et à cônes aigus roux vif presque sessiles qui forme la forêt des Landes comprise dans le triangle formé par l'Atlantique, la Garonne et l'Adour. Pour obtenir la térébenthine, on met l'aubier à nu par entailles successives.

Autrefois on traitait la térébenthine de Bordeaux à feu nu pour en retirer l'essence. Mais, comme la térébenthine bout à 180°, l'essence était mêlée d'huile de résine et la colophane s'oxydait. Il ne faut absolument pas dépasser 150° pour obtenir un produit à peu près pur. C'est pour cette raison que le Codex indique le mode de distillation de l'essence officinale.

Maintenant, la plus grande partie des essences commerciales est obtenue par entraînement avec la vapeur d'eau ou avec un gaz inerte et même encore par distillation dans le vide. Pourtant elle renferme presque toujours un peu d'huile de résine et de la colophane. Ce sont là des adultérants normaux qui, dans une bonne essence, sont tolérés dans une proportion de 2,5 o/o. Par *vieillesse*, il se forme des corps analogues aux résines et, après une longue oxydation, des acides différents de ceux des résines et que TSCHIRCH attribue aux résines.

(2) Bretin matière médicale

DEUXIÈME PARTIE

Expériences personnelles

Après avoir indiqué la méthode suivie et les conditions d'expérimentation, nous exposerons les résultats des expériences sur les produits témoins : éther acétique et phénol, avant d'indiquer les doses infertiles des constituants d'essences étudiés.

CHAPITRE I

Conditions d'Expériences

La première difficulté rencontrée reposait dans le choix d'un bon solvant pour les antiseptiques examinés.

Il fallait, en effet, un corps résistant à l'action de l'oxygène ozonidé et ayant par lui-même un pouvoir infertile nul ou négligeable. Après plusieurs expériences dont nous indiquerons succinctement les résultats, l'acétate d'éthyle nous a paru donner toute satisfaction.

L'éther acétique employé avait été purifié par lavage et redistillation ; il était parfaitement neutre.

Dans ce solvant, était d'abord préparée une solution à 5 ou 20 o/o du corps à étudier. Une partie de cette solution était ozonifiée par M. DŒUVRE, au Laboratoire de Chimie générale de la Faculté des Sciences, et l'autre partie servait aux expériences comparatives.

Dès la fin de la préparation, le tube contenant la solution ozonifiée était plongé dans un récipient rempli de glace et entouré de sciure. Avant l'expérience, cet ensemble était conservé avec l'autre solution dans un local frais ou même à la glacière pendant quatre heures environ.

Le milieu de culture était constitué par 25 cc. d'eau peptonée, légèrement alcalinisée à la phthaléine, contenus dans des fioles de verre bouchées au papier. Les indications utiles sur la dilution, la nature du microbe et la date de l'expérience étaient marquées sur la coiffe en papier de chaque ballon.

La semence était empruntée à des cultures fraîchement repiquées de staphylocoque, d'Eberth et de charbon. Ce dernier bacille n'avait pas sporulé.

Une pipette bactériologique effilée permettait la répartition par gouttes de la solution du produit dans l'éther acétique. Le poids de chaque goutte de cette pipette ayant été déterminé au préalable par des mesures sur le même acétate d'éthyle, il était facile de connaître la dilution d'antiseptique que présentait chaque goutte dans 25 cc. de bouillon, puis dans 1000 cc.

Au cours de l'expérience, il était d'abord établi des dilutions croissantes d'antiseptique au moyen de la pipette, puis l'ensemencement de chaque fiole se faisait au moyen de deux ou trois gouttes de culture. Les fioles de bouillon étaient alors portées à l'étuve et, pendant 8 jours, l'apparition nette de culture était relevée toutes les 18 heures.

Nous avons ainsi constaté dans l'apparition des cultures, des retards variant avec l'espèce microbienne et l'antiseptique essayés ; mais, malgré leur intérêt, nous n'indiquerons pour plus de clarté que les doses limites d'infertilisation constatées au cours de plusieurs expériences.

CHAPITRE II

Résultats de plusieurs expériences sur les produits témoins

Les chiffres indiquent les proportions en grammes du corps étudié dans 1000 cc. de bouillon, pour obtenir l'infertilisation totale constatée après 8 jours.

Ether acétique

Nous avons employé l'acétate d'éthyle pur et neutre et nous avons comparé son pouvoir infertilisant, avant et après ozonification.

Dans les deux cas, nous avons obtenu les mêmes résultats.

Doses infertil. en gr. pour 1.000 cc. de bouillon

Charbon	12 grammes
Eberth	12 grammes
Staphylocoque	> 13 grammes 30

Nous nous sommes donc crus autorisés, dans les expériences suivantes, à négliger le pouvoir infertilisant de l'éther acétique introduit comme dissolvant.

Phénol

L'ozone n'a paru avoir aucune action sur le phénol. En tous cas, comme pour l'acétate d'éthyle, avant et après le courant d'ozone, le phénol a donné les mêmes résultats au point de vue infertilisation.

Doses infertil. en gr. pour 1000 cc. de bouillon

Charbon	0,20 à 0,26
Eberth	0,85 à 1 gr.
Staphylocoque	1,60 à 1,80

CHAPITRE III

de quelques alcools terpénogènes sur le pouvoir infertilisant des constituants d'essences

I.- Les alcools terpénogènes

Les chiffres indiquent les proportions en grammes du corps étudié dans 1000 cc. de bouillon, pour obtenir une infertilisation totale observée après 8 jours.

Citronnellol

	Avant ozonification	Après ozonification
Charbon	0,16 à 0,18	0,10 à 0,14
Eberth	0,24 à 0,30	0,20 à 0,28
Staphylocoque	0,15 à 0,24	0,10 à 0,14

Rhodinol Barbier

	Avant ozonification	Après ozonification
Charbon	0,16 à 0,20	0,10 à 0,12
Eberth	0,16 à 0,24	0,16 à 0,18
Staphylocoque	0,12 à 0,18	0,10

Linalol

	Avant ozonification	Après ozonification
Charbon	0,24 à 0,36	0,05 à 0,07
Eberth	0,12 à 0,24	0,07 à 0,10
Staphylocoque	0,24 à 0,36	0,07 à 0,10

2. - Résultats des Expériences sur quelques terpènes

Pinène de Myrte

	Avant ozonification	Après ozonification
Charbon	0,84 à 0,88	0,16 à 0,20
Eberth	0,80 à 0,84	0,18 à 0,24
Staphylocoque	>1	0,14 à 0,24

Essence de Térébenthine Codex

	Récemment distillée	Vieille	Récemment distillée et ozonidée
Charbon	>1	0,07 à 0,10	0,15 à 0,18
Eberth	>1	> 0,40	0,20 à 0,23
Staphylocoque	>1	> 0,40	< 0,07

Résumé des Résultats obtenus

Le pouvoir infertilisant de ces alcools terpénogènes est donc considérable alors que celui des pinènes est faible. On s'en rend compte plus nettement si on compare les résultats de nos expériences avec ceux déjà obtenus par MM. Morel et Rochaix sur un certain nombre d'essences végétales.

Nature de l'essence	en cc. pour 1.000 de milieu	
	Bacille d'Eberth	Staphylocoque
Thym à thymol	0,15	0,15
Thym à carvacrol	0,70	0,70
Eucalyptus citriodora	0,50	0,50
Eucalyptus globulus	6,50	> 7
Lavande (1)	4,50	4,50
Essence de Menthe	3	3
Menthol (Codex) (2)	3	3

D'après ces expériences portant sur des produits de constitution chimique si dissemblable, il ne paraît pas possible de rattacher le pouvoir antiseptique à des fonctions chimiques déterminées. Comme l'ont fait remarquer MM. MOREL et ROCHAIX, il semblerait que les propriétés physiques des différents corps puissent jouer un rôle important dans leur action infertilisante.

Les modifications du pouvoir infertilisant de ces corps à la suite de l'action de l'ozone, que nous avons constatées sont les suivantes :

Pour les alcools terpénogènes l'augmentation est faible : moins de 2 fois plus pour le citronnellol et le rhodinol, 2 à 5 fois plus pour le linalol.

Mais pour les pinènes à pouvoir infertilisant très faible par eux-mêmes, l'augmentation d'activité par suite de l'action de l'oxygène ozoné est très importante.

(1) A. Morel, A. Rochaix Bulletin Sciences Pharmacol 1928 T. xxxv p. 632

(2) A. Morel, A. Rochaix, L. Sevelinge Comptes rendues Société Biologie Lyon 1927 T. xcviii p. 48.

CONCLUSIONS

1° Le pouvoir infertilisant des alcools terpénogènes d. citronellol, l. rhodinol de Barbier et l. linalol, est considérable vis à vis du staphylocoque, du bacille d'Eberth et de la bactérie charbonneuse non sporulée.

L'intensité de ce pouvoir ressort nettement si on le compare à celui qui a été déterminé par les expériences antérieures de MM. A. Morel et A. Rochaix sur d'autres constituants des essences végétales et à celui du phénol ordinaire, expérimenté par nous dans les mêmes conditions.

2° L'action à une température voisine de 0°, d'un courant d'oxygène fortement ozonisé sur le citronnellol et le rhodinol en solution à 5 pour cent dans l'acétate d'éthyle, augmente d'une façon peu intense le pouvoir infertilisant de ces alcools terpénogènes (moins de 2 fois plus). Elle le renforce plus nettement pour le linalol (2 à 5 fois plus). Ce renforcement est surtout manifeste vis à vis du bacille du Charbon.

3° Le pinène de myrte et l'essence de térébenthine (Codex) ont vis à vis des microbes expérimentés, un pouvoir infertilisant beaucoup plus faible que celui des alcools terpénogènes.

4° L'action de l'ozone sur ces produits terpéniques renforce d'une façon importante (10 fois plus et même davantage) le pouvoir infertilisant de ces substances et ce renforcement est beaucoup plus considérable que dans le cas des alcools terpénogènes.

5° Le pouvoir infertilisant de l'essence de térébenthine vieillie (présentant une forte réaction à la tein-

ture de gayac) est, pour le bacille du charbon seulement, supérieur à celui de l'essence de térébenthine ayant subi l'action de l'ozone

Le Président de la Thèse,

ALBERT MOREL.

Vu :

Le Doyen,

JEAN LEPINE.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 3 Mai 1930

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,

GHEUSI,

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	9
------------------------	---

INTRODUCTION	11
------------------------	----

PREMIÈRE PARTIE — PRÉLIMINAIRES

CHAPITRE PREMIER

Expériences antérieures sur le pouvoir antiseptique des essences	13
---	----

CHAPITRE II

Caractères chimiques des produits employés	29
Etude botanique	43

DEUXIÈME PARTIE

Expériences personnelles	49
------------------------------------	----

CHAPITRE I

Conditions d'expériences	49
------------------------------------	----

CHAPITRE II

Résultats de plusieurs expériences sur les produits témoins	51
---	----

CHAPITRE III

Résultats de plusieurs expériences sur quelques alcools. terpénogènes et quelques terpènes	52
---	----

RÉSUMÉ	54
------------------	----

CONCLUSIONS	55
-----------------------	----
